Observaciones biológicas y citogenéticas sobre *Graellsia isabelae* (Graells, 1849)

(Lep. Saturniidae)

POR

J. Templado, J. Álvarez y E. Ortiz.

Entre las 1.200 especies descritas de satúrnidos *Graellsia isabelae* (Graells, 1849) ocupa una posición taxonómica bastante aislada. Endemismo ibérico vinculado fundamentalmente a las áreas españolas de *Pinus silvestris,* sus orugas se han observado además sobre *Pinus nigra* en la Sierra de Segura, provincia de Jaén. La presencia de *G. isabelae* en un enclave de los Hautes Alpes en Francia, donde fue descubierta en 1922, se debe atribuir a la acción humana.

Aunque se han publicado bastantes trabajos sobre esta espléndida falena (véase Ceballos y Agenjo, 1943) y su ciclo biológico se conoce relativamente bien, aún quedan diversos aspectos bio-ecológicos que necesitan ser aclarados.

La cría en laboratorio de *G. isabelae,* a partir de la fase de huevo, durante dos años consecutivos nos ha permitido, por un lado, realizar algunas observaciones biológicas que juzgamos interesante dar a conocer, y, por otro, obtener material en condiciones aptas para efectuar su análisis citogenético.

Manifestamos aquí nuestro agradecimiento al Prof. D. Ramón Agenjo y al Dr. Ing. D. Gonzalo Pardo por habernos proporcionado material de *G. isabelae* procedente de El Ventorrillo-Cercedilla y de Rascafría, provincia de Madrid.

Datos biológicos.

Tras un intento fallido de criar la "isabelina" en cristalizadores, pensamos que lo más adecuado sería utilizar ramas no muy grandes de pino silvestre, cuya parte basal quedara introducida en agua a fin de evitar su desecación rápida. Como recipientes empleamos botellas

de base ancha. Las ramas se ajustan al cuello de las correspondientes botellas mediante algodón o papel de filtro y en estas condiciones permanecen con sus hojas frescas durante 7 u 8 días. Al cabo de este tiempo se cambian por otras recién cogidas.

Los huevos, obtenidos de hembras cazadas a la luz, se sitúan cuando comienzan a avivar entre las acículas de tales ramas, operación muy sencilla si han sido depositados en grupos o sobre papel. Las orugas recién nacidas tienden desde el principio a permanecer separadas unas de otras y acaban instalándose en distintas acículas con la cabeza siempre dirigida hacia la parte apical de las mismas.

Las botellas con las ramas de pino se colocan a su vez dentro de bandejas grandes de plástico, a fin de que queden en ellas las orugas que se caigan al trasladarse entre las acículas. Bandejas y botellas se han mantenido en una habitación del sótano con una claraboya por donde entra la luz del día. Junto a las bandejas ha funcionado un termohigrógrafo para registrar las oscilaciones de temperatura y humedad relativa. La temperatura máxima se ha alcanzado todos los días hacia las 13 horas, cuando el sol se filtra a través de la claraboya, no sobrepasando nunca los 28° y permaneciendo la mayor parte del tiempo entre 20° y 22°; la humedad relativa ha oscilado entre 55 y 80 %.

En tales condiciones la duración media de las cuatro primeras edades larvarias ha sido de 5 días y de 8-10, la quinta. Unos 29 días en total. Pero siempre hay individuos que se desfasan, de tal modo que mientras alguna oruga ha alcanzado el final de su desarrollo a los 25-26 días, otras han tardado hasta 33 en comenzar a hilar el capullo. De todas formas la duración de la fase de oruga ha sido más corta que los 35-37 días observados por Balcells y Dicenta (1963) en Barcelona a 21°. Las orugas criadas según se ha explicado llegan casi todas a término, miden entonces entre 6 y 7 cm., dimensiones menores que las que alcanzan en la naturaleza, pero bastante aceptables para las condiciones de laboratorio en Madrid: temperatura alta, humedad relativa baja y dificultad para obtener ramas de *Pinus silvestris*. En condiciones naturales el desarrollo larvario es más lento, de junio a agosto según Riesgo (1961).

Cuando las orugas han llegado al final de su crecimiento se ha puesto en el fondo de las bandejas, entre las botellas, una capa de musgo con algo de tierra para facilitar su crisalidación. El período prepupal ha sido de 5-7 días, transcurridos los cuales las orugas se han transformado en crisálidas. Recién formada la crisálida es de co-

lor gris verdoso, con los estuches antenales y alares "contraídos" y los segmentos abdominales distendidos. Al cabo de poco tiempo se alargan aquéllos y se contraen éstos y toda la crisálida va tomando un color pardo claro que será definitivo al cabo de unas horas. El insecto permanece en esta fase hasta la primavera siguiente.

Las orugas de *G. isabelae* presentan diversos caracteres morfológicos y etológicos que las hacen aptas para vivir entre las acículas de pino y alimentarse de ellas.

Recién nacidas presentan fototaxia positiva y tendencia al aislamiento. El resultado es que quedan situadas cada cual en una acícula y no se estorban unas a otras. Se alimentan siempre comiendo de arriba a abajo; durante la primera edad y comienzos de la segunda sólo devoran uno de los bordes de la correspondiente acícula, la cual queda como aserrada en dicho borde.

A partir de la tercera edad los segmentos torácicos se ensanchan por su parte notal, de manera que en la cuarta y quinta edad la región torácica aparece arqueada hacia abajo, quedando la cabeza inclinada hacia la región ventral. Esta disposición está en consonancia con su modo de alimentarse. Como han señalado diversos autores, la oruga de la "isabelina" coge la acícula entre sus patas torácicas y comienza a ingerirla por el ápice, cortándola con sus piezas bucales siempre en sentido transversal hasta llegar a la vaina de la base. Las orugas, que permanecen fuertemente sujetas con sus patas abdominales a las ramillas de pino, con frecuencia han de curvar las acículas cuando son largas para alcanzar su extremo con la boca. Las patas torácicas, con las cuales sujeta la acícula, acaban en una uña afilada y presentan además en su cara interna una serie de pequeñas cerdas entre las que queda aprisionada la hoja de pino, finamente aserrada en los bordes, todo lo cual contribuye a que no se escurra en ningún caso.

Aunque la larva de "isabelina" alcanza un tamaño grande, con un grosor de 1,3 cm., permanece siempre blanda y muy flexible, lo cual le permite moverse con facilidad entre las acículas de pino.

Datos anatómicos.

Con el fin de extraer las gónadas y establecer el momento más adecuado para el análisis citogenético, hemos efectuado disecciones de orugas, prepupas y crisálidas.

La oruga posee un intestino medio muy lobulado de color amarillo ocráceo; las glándulas sericígenas están plegadas en zig-zag a ambos lados del aparato digestivo y miden unas cinco veces la longitud del cuerpo; los tubos de Malpighi son amarillentos y varicosos; el cuerpo, graso, es blanco y forma láminas fenestradas.

Las gónadas masculinas, que en la mayoría de los lepidópteros se unen al formarse la crisálida para constituir un cuerpo impar, permanecen separadas en *G. isabelae* a lo largo de todo su desarrollo, lo cual sucede también en otras especies de satúrnidos.

Al final de la fase larvaria los testículos, reniformes y blanquecinos, miden 2 × 1 × 1 mm., mostrando cada uno los cuatro lóbulos característicos. En el período prepupal aumentan algo de tamaño, sus dimensiones aproximadas son 2 × 1,5 × 1 mm. En la crisálida siguen creciendo, se acentúa su forma reniforme y toman un tinte amarillento; miden, entonces, 3 × 2 × 1,5 mm.

Datos citogenéticos.

Espermatogénesis. La espermatogénesis se inicia en el testículo de la oruga. En el de la oruga de 5.ª edad el número de cistos varía entre 7 y 13. Cuando la oruga está próxima a crisalidar (prepupa), los dos tercios de cada testículo contienen espermatogonias, siendo relativamente frecuentes las gonias en metafase. En ellas se cuentan 62 cromosomas, que tienen forma de bastones cortos, rectos o ligeramente curvados. Su tamaño oscila entre 0,7 y 1,9 micras de longitud. Los núcleos que los contienen son de unas 18 micras de diámetro. El tercio restante se compone de cistos de espermatocitos de primer orden, la mayoría de ellos en profase. Se encuentran también algunos cistos en diferentes estados de la espermiohistogénesis, incluso con espermatozoides maduros.

En la crisálida recién formada, la meiosis comienza a transcurrir del estado paquitene al diplotene; disminuyen los cistos de espermatogonias y aumentan los que contienen fases de la espermiohistogénesis. La espermatogénesis alcanza su plenitud en la crisálida al final de la invernación; en este período son escasísimos los cistos de espermatogonias, casi la mitad del testículo lo ocupan los cistos de espermatocitos y el resto está formado por células en diferentes fases de la espermiohistogénesis, con numerosos haces de espermatozoides maduros.

En el diplotene se observan 31 bivalentes que en su mayoría forman un solo quiasma terminal; otros bivalentes, en número variable de 3 a 7 por célula, forman dos quiasmas terminales, por lo que aquéllos toman forma de anillo. En las metafases de la primera división meiótica se cuentan asimismo 31 bivalentes (fig. 1). No se observa ningún bivalente heteromorfo, resultando por consiguiente que el macho es homogamético. En la anafase I los bivalentes se separan, como sucede en numerosos lepidópteros estudiados por nosotros, con su eje

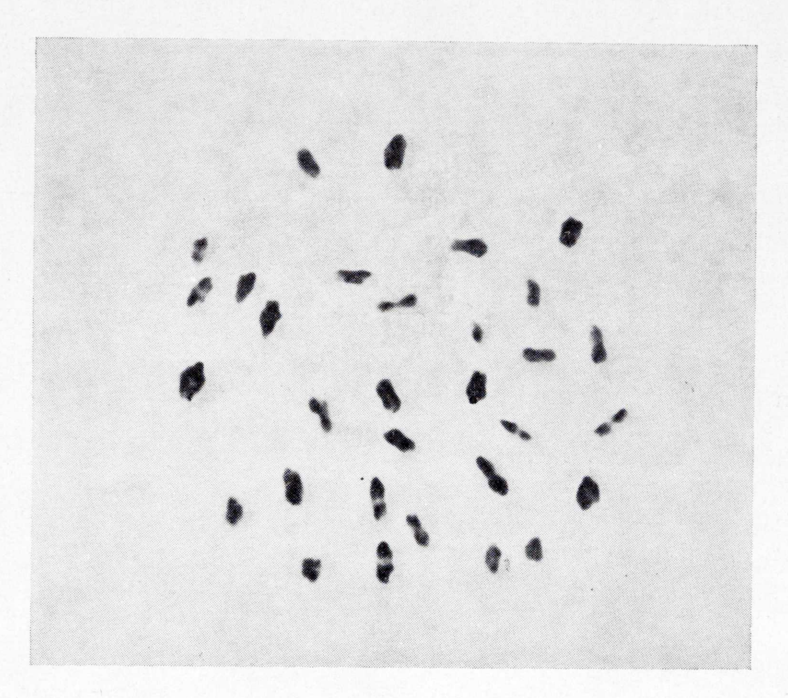


Fig. 1.—Cromosomas de *Graellsia isabelae,* Cercedilla, Madrid; metafase I, n = 31 (× 2.000).

mayor paralelo a las fibras del huso acromático, que en el caso de los bivalentes que sólo forman uno se insertan en el extremo libre de quiasma, el cual mantiene unidos los homólogos hasta el comienzo de la anafase; los bivalentes sin anillo se abren al comienzo de la anafase, momento en el que se terminaliza uno de los quiasmas mientras que el otro mantiene la unión de los homólogos, como en el caso anterior. La anafase es normal y de ella resultan 31 cromosomas, que se observan en la metafase de la segunda división meiótica.

No se observan constricciones en los cromosomas, ni regiones con ciclo especial de división. Las cromátidas se separan paralelamente

entre sí durante la anafase, con los extremos dirigidos hacia los polos; en casos favorables pueden verse las fibras del huso acromático insertadas en la superficie de las cromátidas que se dirigen hacia los polos.

Las observaciones anteriores acerca de la morfología y movimiento de los cromosomas en mitosis y meiosis de *G. isabelae* coinciden con las realizadas en otros lepidópteros (Ortiz y Templado, 1971).

En el testículo de la crisálida que se encuentra al final de la diapausa, la mayoría de los homólogos en metafase I son asinápticos y en algunas células se observan seudobivalentes en número variable. En la anafase I los cromosomas univalentes no se insertan normalmente en el huso, produciéndose una segregación anómala, con los cromosomas irregularmente esparcidos entre el huso a distancias variables de los polos. Esta asinapsis, seguida de segregación anormal, conduce a la producción de espermatocitos que contienen espermatozoides apirenes. Este fenómeno, que se produce cuando la meiosis está próxima a su fin, parece ser la regla en muchos lepidópteros; nosotros la hemos observado en todas las especies que hemos estudiado en estas condiciones.

En total se han contado 28 espermatogonias en metafase, de 1 oruga, 3 prepupas y 2 crisálidas, con $2n = 62$ cromosomas; 151 espermatocitos I, de 6 crisálidas, con $n = 31$ bivalentes, y 16 espermatocitos II, de 3 crisálidas, con $n = 31$ cromosomas.

Los números haploides de cromosomas de las 16 especies de la familia satúrnidos compiladas por Robinson (1971) varían ampliamente, entre 13 y 49, y sólo 7 de ellas poseen 31 cromosomas; a estas últimas se une ahora *G. isabelae*. Este número es el más frecuente en los lepidópteros y se considera como muy primitivo dentro del orden.

Resumen.

Graellsia isabelae se cría con facilidad, a partir de la fase de huevo, sobre ramas de pino silvestre, cuya parte basal se introduce en botellas de agua, colocadas a su vez en una bandeja grande de plástico. La temperatura máxima no debe sobrepasar los 28º y la humedad relativa conviene que sea del 60-70 %. Cuando llega el momento de la crisalidación se pone en el fondo de la bandeja una capa de musgo con algo de tierra.

La larva de *G. isabelae* presenta caracteres morfológicos y etológicos adaptados a su peculiar modo de comer las acículas y a moverse entre ellas.

El análisis citogenético de la espermatogénesis muestra que *G. isabelae* posee $2n = 62$ ($n = 31$) cromosomas.

SUMMARY.

Graellsia isabelae breeds easily in laboratory conditions, from egg to adult stages, on *Pinus silvestris* branches whose basal part is introduced into bottles filled with water placed in a plastic tray. Maximum temperature should not surpass 28 C° and relative humidity must be between 60 and 70 per cent. When pupation occurs a bed of soil covered with mosses should be placed on the bottom of the tray.

The larva presents morphological and ethological adaptations for their peculiar way of eating the pine's leaves and to move among them.

Cytogenetical analysis of the spermatogenesis show that the chromosome number of this species is $2n = 62$ ($n = 31$).

Bibliografía.

[1] AGENJO, R.
1967. Historia de la *Graellsia isabelae* (Grlls., 1849) la más bella mariposa europea. *Bol. Serv. Plag. Forest.*, año X, núm. 19, págs. 35-42.

[2] BALCELLS, E. y DICENTA, A.
1963. Estudio biológico, morfológico y ecológico de *Graellsia isabelae* Graells. *Miscel. Zool.*, Barcelona, t. I, fasc. 5, págs. 121-140.

[3] BOURGOGNE, J.
1951. *Ordre des Lépidoptères*, en GRASSÉ, P. P. *Traité de Zoologie.* Masson. Paris, t. X (fasc. I), págs. 174-448.

[4] CEBALLOS, G. y AGENJO, R.
1943. Ensayo sobre la *Graëllsia isabelae* (Graells), el lepidóptero más bello de Europa *(Lep. Syssph.). Eos,* Madrid, t. XIX, páginas 303-414.

[5] MARTEN, W.
1955. Über die Lebensgeschichte von *Graëllsia isabellae* (Grls.) nebst Beschreibung einer neuen Varietät dieser Art. *Entom. Zeits.*, t. LXV, págs. 145-157.

[6] MICHENER, C. D.
1952. The Saturniidae of the Western hemisphere: morphology, phylogeny and classification. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, t. XCVIII, págs. 335-502.

[7] ORTIZ, E. y TEMPLADO, J.
1971. Los cromosomas de dos especies de sésidos *(Lep. Aegeriidae). Eos,* Madrid, t. XLVII, págs. 235-246.

[8] RIESGO, A.
1961. *Graellsia isabelae* Graells. *Bol. Serv. Plag. Forest.,* año IV, núm. 8, págs. 89-96.

[9] ROBINSON, R.
1971. *Lepidoptera genetics.* Pergamon Press. Oxford. 687 págs.